Ueber

die Dauer der Lebensfähigkeit

des

Typhusbacillus

im Fluss- und Brunnenwasser.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doctorwürde

der

hohen medicinischen Facultät der Universität Rostock

vorgelegt

von

Otto Griewank

aus Bützow,

Assistenzarzt an der medicinischen Klinik zu Rostock.

Rostock.

Carl Boldt'sche Hof-Buchdruckerei.

1892.

Meinen Eltern.

Nachdem im Laufe der ersten Hälfte der achtziger Jahre durch zahlreiche Beobachtungen hervorragender Aerzte und Forscher die Annahme, dass das Trinkwasser bei der Verbreitung der Typhusbacillen und Uebertragung derselben auf den Menschen eine hervorragende Rolle spielt, fast zur Gewissheit geworden war, gewann alsbald die Frage grosses Interesse, wie lange denn die Typhusbacillen im Wasser sich lebensfähig erhalten könnten. Es sind über dieses Thema in den letzten Jahren zahlreiche Versuche angestellt und veröffentlicht worden. Da aber die verschiedenen Autoren bei ihren Versuchen zu recht verschiedenen Resultaten gelangt sind, so erschien es mir am Platze, weitere Versuche zur Klärung der Frage anzustellen. Ich durfte um so mehr hoffen, bei denselben zu einem befriedigenden Resultate zu gelangen, als es mir vergönnt war, mich bei denselben zum Nachweis der Typhusbacillen der kürzlich von Herrn Professor Dr. Uffelmann veröffentlichten neuen Methode unter Anleitung des Autors selbst zu bedienen. Dieselbe ermöglicht es, die Typhusbacillen selbst in sehr mikrobenhaltigen Wässern leichter und sicherer nachzuweisen, als bei Anwendung der früheren Methoden.

Bevor ich jedoch zur Beschreibung meiner eigenen Versuche übergehe, möchte ich eine möglichst chronologische Uebersicht über die Litteratur geben, welche bisher über mein Thema, die Dauer der Lebensfähigkeit des Typhusbacillus im Fluss- und Brunnenwasser, erschienen ist. Ich habe mich dabei in der Hauptsache an die Angaben

in Uffelmann's Jahresberichten über die Fortschritte auf dem Gebiete der Hygiene gehalten, jedoch auch die Originalarbeiten, soweit ich sie bekommen konnte, durchgelesen; vereinzelte Litteraturangaben habe ich aus Tiemann und Gaertner: „Die chemische und mikroskopisch-bacteriologische Untersuchung des Wassers" entlehnt.

Die erste Mittheilung von Versuchen über die Lebensdauer des Typhusbacillus im Wasser, welche ich habe auffinden können, erschien 1885 in der Gazette médicale de Paris Nr. 18. In derselben constatirt Bagenoff, dass nach seinen Versuchen der Typhusbacillus im Wasser längere Zeit lebend sich erhalten und sich sogar vermehren könne.

Im Jahre 1886 veröffentlichte Meade Bolton in der Zeitschrift für Hygiene, Band I, Seite 76 ff., eine Arbeit „Ueber das Verhalten verschiedener Bacterienarten im Trinkwasser." Meade Bolton sterilisirte Proben von destillirtem Wasser, Leitungswasser, filtrirtem und unfiltrirtem Brunnenwasser in Erlenmeyer'schen Kölbchen, inficirte sie dann mit Typhusbacillen und bewahrte sie bei 20° C. auf. Er fand, dass die Typhusbacillen sich unter diesen Umständen in den meisten Fällen 10—14, in einigen 20, in einem Falle sogar 30 Tage lebensfähig erhielten.

Noch in demselben Jahre veröffentlichen Wolffhügel und Riedel in den Arbeiten aus dem kaiserlichen Gesundheitsamt, Band I, Seite 466 ff., eine grosse Anzahl ganz ähnlicher Versuche.

Sie benutzten zu ihren Versuchen zunächst auch nur sterilisirte Wasserproben, welche theils einem benachbarten Flusse (Panke), theils verschiedenen Brunnen entnommen waren. Die mit Typhusbacillen inficirten Kölbchen wurden theils bei Zimmertemperatur (16—20° C.) theils bei 35° C. aufbewahrt. Die genannten Autoren fanden bei zahlreichen Versuchen, dass sich die Typhusbacillen stets längere Zeit lebensfähig erhielten, in vereinzelten Fällen

bis zu 20, ja 32 Tagen. Mehrmals zeigte sich in den ersten Tagen sogar eine bemerkenswerthe Vermehrung der Typhuskeime, und zwar besonders in denjenigen Wässern, welche reich waren an gelösten festen Bestandtheilen. Auch bei einer Temperatur von 8° C. blieben die Typhusbacillen längere Zeit lebensfähig. Weiter fanden Wolffhügel und Riedel, dass bei Einsaat in destillirtes Wasser die Typhusbacillen schon nach drei Tagen fast verschwanden, einzelne Bacillen hielten sich jedoch auch hier länger, in einem Falle bis zum 20. Tage.

Um nun weiter auch das Verhalten der Typhusbacillen in nicht keimfreiem Wasser zu studiren, soweit das bei den damaligen Methoden zur Erkennung der Typhusbacillen neben anderen Mikroben möglich war, säten sie in Proben destillirten Wassers gleichzeitig Typhusbacillen und mässige Mengen leicht von diesen zu unterscheidender Wasserbacterien. Sie fanden bei wiederholten Versuchen, dass beide sich längere Zeit neben einander lebensfähig erhielten.

Im Jahre 1887 erschien im Archiv für Hygiene, Band VI, Seite 234 ff., eine Arbeit von Kraus „Ueber das Verhalten pathogener Bacterien im Trinkwasser.“ Kraus, ein Schüler und entschiedener Anhänger Pettenkofer's, polemisirt zunächst lebhaft gegen Meade Bolton, sowie Wolffhügel und Riedel und ihre aus ihren Versuchen zu Gunsten der Trinkwassertheorie gezogenen Schlüsse. Kraus spricht den Versuchen Meade Bolton's geradezu jeden praktischen Werth ab, „weil er bei denselben von vorneherein zwei Bedingungen, von welchen bekanntermassen das schliessliche Schicksal der in das Wasser gebrachten pathogenen Bacterien hauptsächlich bedingt sein muss, die Temperatur des Brunnenwassers und die Concurrenz der natürlichen Wasserbacterien, ausgeschaltet hat.“ Nicht viel besser urtheilt Kraus über Wolffhügel und Riedel. Er selbst benutzte nun zu seinen Versuchen drei Wässer, von denen er vorher

festgestellt hatte, dass sie nur wenige und nur solche Wasserbacterien enthielten, die durch die Form ihrer Colonien von den Typhusbacillen leicht zu unterscheiden waren. Von ihnen wurden Proben in Erlenmeyer'sche Kölbchen entnommen, mit Typhusbacillen, die aus der Milz eines vor einem Monat Verstorbenen gezüchtet waren, inficirt und dauernd in einer Temperatur von $10^1/_2{}^0$ C., der durchschnittlichen Temperatur des zum Trinken verwendeten Brunnenwassers, gehalten. Kraus konnte bei sämmtlichen Versuchen vom siebenten Tage nach der Einsaat ab keine Typhusbacillen mehr entdecken, während die Wasserbacterien von Tag zu Tag eine fortschreitende bedeutende Vermehrung zeigten. Dabei war die chemische Zusammensetzung ohne Einfluss, denn die Typhusbacillen verschwanden gleichzeitig im reinsten Quellwasser wie im stark verunreinigten Brunnenwasser.

Aus diesen Resultaten zieht Kraus den Schluss, dass die Trinkwassertheorie unhaltbar sei, weil die pathogenen Mikroorganismen zu schnell aus dem Wasser wieder verschwänden.

Am Schlusse seiner Arbeit citirt Kraus noch zwei Aussprüche von Arnould aus dessen Arbeit: „L'eau et les bactéries spécialement les bactéries typhogènes". Revue d'hygiène 1887, vol. IX, pag. 27 ff., die mir leider nicht im Original zugänglich war. Arnould schreibt: Das Wasser, welches sich in der Natur findet, selbst wenn es sehr viele organische Substanzen enthält, ist ein den pathogenen Bacterien antipathisches Medium.

Ebenfalls im Jahre 1887 veröffentlichte Hueppe im Journal für Gasbeleuchtung und Wasserversorgung einen Aufsatz: „Die hygienische Beurtheilung des Trinkwassers vom biologischen Standpunkte." Hueppe hatte im Wesentlichen die Versuche von Kraus wiederholt und kam dabei zu ähnlichen Resultaten. Von zehn Versuchskölbchen mit Typhusbacillen in schlechtem Brunnenwasser enthielten zwei am fünften Tage keine Typhuskeime mehr,

bei den übrigen fand ein langsames Absterben unter steter Zunahme der Wasserbacterien statt. Gleichwohl waren am zehnten Tage in fünf Kölbchen noch vereinzelte Typhuskeime vorhanden, am fünfzehnten indessen keine mehr.

Hochstetter veröffentlichte in demselben Jahre 1887 in den Arbeiten aus dem kaiserlichen Gesundheitsamt, Band II, Seite 1 ff. Versuche über die Lebensdauer der Typhusbacillen im Selters- und Leitungswasser bei einer Temperatur von 13—15° C. Er fand, dass die Keime in der Regel am fünften Tage abgestorben waren. Er glaubt, dass im Selterswasser der Gehalt an freier Kohlensäure ein beschleunigtes Absterben wie aller Mikroben, so besonders der pathogenen Bacterien bewirke.

Tiemann und Gaertner berichten in ihrem Werk: „Die chemische und mikroskopisch bacteriologische Untersuchung des Wassers", dass sie in einem Kölbchen, welches mit von organischen Bestandtheilen fast freiem Wasser angefüllt, abgekocht und dann mit Typhusbacillen inficirt wurde, noch nach vier Wochen lebende Bacillen fanden; in einem andern Falle waren dieselben schon nach vier Tagen verschwunden.

C. Seitz constatirt in seinem Aufsatz: „Bacteriologische Studien zur Typhusaetiologie", München 1887, dass die Typhusbacillen mindestens acht Tage im Wasser lebend sich erhalten können.

Sehr günstige Resultate erhielt Maschek, dessen Originalarbeit ich leider nicht ausfindig machen konnte. Tiemann und Gaertner berichten darüber Folgendes: „Maschek setzte den verschiedenen Wässern die sporenhaltigen Typhusbacillen in 0,5 ccm Kochsalzlösung zu und hielt sie im Thermostaten bei einer Temperatur von 18—22° C. Zunächst zeigte sich eine bemerkenswerthe Vermehrung der pathogenen Keime. Am zehnten Tage waren dieselben in einem Kölbchen, am 40. in drei weiteren, am 60. im fünften und am 80. im sechsten Kölbchen abgestorben."

Chantemesse und Vidal konnten die Typhusbacillen drei Monate lang im Wasser bei Zimmertemperatur lebend erhalten. Die betreffenden Mittheilungen finden sich im „Archive de physiologie“ 1887, pag. 282 ff., unter dem Titel: „Recherches sur le bacille typhique.“

Im Archiv für Hygiene, Band IX, Seite 113 ff., veröffentlichte Karlinski eine Arbeit: „Ueber das Verhalten einiger pathogenen Bacterien im Trinkwasser.“ Karlinski benutzte zu seinen Versuchen in Erlenmeyer'schen Kölbchen aufbewahrte Proben des Innsbruck-Wiltener Leitungswassers und das Brunnenwasser des pathologisch-anatomischen Instituts zu Innsbruck. Er bestimmte zunächst genau den Bacteriengehalt der verschiedenen Wässer nicht blos der Zahl, sondern auch der Art nach. Er fand sie durchweg arm an Bacterien und nur sieben verschiedene Arten. Die so dem Keimgehalt nach genau bekannten Wasserproben inficirte er mit Aufschwemmungen aus Agar-Agarculturen der Typhusbacterien und hielt sie dauernd bei einer Temperatur von 8° C. Täglich wurde auf Gelatine abgeimpft. Das Resultat war, dass in sämmtlichen Wasserproben vom siebenten Tage ab keine Typhusbacillen mehr nachweisbar waren, während gleichzeitig die Wasserbacterien eine erhebliche Zunahme zeigten. Eine anfängliche Vermehrung der Typhusbacillen wurde nicht wahrgenommen. Auf Grund dieser Beobachtungen schliesst sich Karlinski durchaus der Ansicht von Kraus an, dass, wie alle pathogenen Keime, so auch speciell die Typhusbacillen im Brunnenwasser zu schnell zu Grunde gingen, als dass man der Verbreitung der Krankheit durch das Trinkwasser irgend welche Bedeutung zumessen könnte. Denn er glaubt, dass unter den natürlichen Verhältnissen, bei denen eine Brunneninfection mit Typhuskeimen überall stattfinden kann, nämlich beim Vorhandensein unreiner Zuflüsse, gerade diese Zuflüsse den Wasserbacterien noch weit günstigere Bedingungen bringen, als sie ihnen bei seinen

Versuchen geboten wurden, und dass dann die Typhuskeime noch viel schneller von den Wasserbacterien vernichtet werden. Er wird in dieser Ansicht bestärkt durch zwei Versuche, bei denen er übelriechendes Tümpelwasser resp. Canalwasser mit Typhus inficirte und schon nach 24 Stunden trotz eifrigen Suchens keine Typhusbacillen mehr nachweisen konnte.

Ungefähr gleichzeitig mit dieser ersten Arbeit von Karlinski erschien im Archive de médecine expérimentale et d'anatomie pathologique 1889, Heft 1, ein Aufsatz von Strauss und Dubarry: „Recherches sur la durée de la vie des microbes pathogènes de l'eau." In demselben theilen die genannten Forscher mit, dass bei ihren Versuchen sich die Typhusbacillen in destillirtem, wie filtrirtem, jedoch vor der Infection mit Typhus stets sterilisirtem Wasser bei einer Temperatur von 15—20° C. bis zu achtzig Tagen lebensfähig erhielten, während sie in nicht sterilisirtem weit schneller verschwanden. Dabei konnte irgendwelche Abhängigkeit von der chemischen Zusammensetzung des Wassers nicht beobachtet werden. In den ersten Tagen nach der Einsaat wurde eine entschiedene Zunahme der Typhuskeime beobachtet.

Wenige Monate nach Veröffentlichung seiner oben erwähnten ersten Arbeit theilte Karlinski im 4. Heft des IX. Bandes des Archivs für Hygiene unter dem Titel: „Ueber das Verhalten des Typhusbacillus im Trinkwasser" eine Reihe weiterer, sehr genauer und ausführlicher Versuche mit. Karlinski knüpft an seine früheren und die von Kraus veröffentlichten Versuche an und bemerkt dazu, dieselben entsprächen insofern noch nicht den natürlichen Verhältnissen, als dabei die stete Erneuerung des Wassers, wie sie doch in natürlichen Brunnen fortwährend stattfände, unberücksichtigt geblieben sei. Und von dieser glaubt der Autor, dass sie für die Lebensdauer aller Mikroorganismen im Wasser von grosser Bedeutung sei. Aus diesem Grunde inficirte Karlinski einen ganzen

Brunnen auf dem Hofe des hygienischen Instituts zu München mit Typhusbacillen und zwar im ganzen viermal, nachdem jedesmal eine Zwischenzeit von mindestens 14 Tagen verstrichen war, während welcher der Brunnen sicher frei von pathogenen Keimen gewesen war. Gesammtmenge, Temperatur und chemische Zusammensetzung des Wassers wurden täglich bestimmt. Erstere blieb stets ziemlich dieselbe, die Temperatur schwankte zwischen 8,3 und 10° C., die Schwankungen in der chemischen Zusammensetzung waren ebenfalls gering, nur beim ersten Versuch zeigte sich nach der Infection in den ersten Tagen eine rapide Steigerung des Sauerstoffverbrauchs zur Oxydation der organischen Substanz, die erst allmählich zur Norm zurückkehrte. Es hatte dies darin seinen Grund, dass beim ersten Versuche die Typhusbacillen in 4 l Bouillon zugesetzt wurden. Beim ersten Versuch liessen sich schon vom dritten Tage ab trotz eifrigen Suchens auf zahlreich angefertigten Plattenculturen Typhusbacillen mit Bestimmtheit nicht mehr nachweisen, beim zweiten und dritten Versuch bewahrten sie eine um ca. 24. Stunden längere Lebensdauer, beim letzten Versuch, bei dem die Menge der zugesetzten Keime eine bedeutend geringere war, waren schon nach 24 Stunden keine Typhusbacillen im Wasser mehr aufzufinden. Karlinski glaubt, durch diese Versuche die Unhaltbarkeit der Trinkwassertheorie endgültig erwiesen und den Anschauungen Pettenkofer's und seiner Schüler zum dauernden Siege verholfen zu haben.

Mattei veröffentlicht in den Annali dell' istituto d'igiene di Roma, I, Serie 2, eine Reihe von Beobachtungen, nach denen sich Typhusbacillen in nicht sterilisirtem Wasser vier bis dreizehn Tage lebensfähig hielten, in fliessendem Wasser gingen sie schneller zu Grunde.

Braem theilt in den Beiträgen zur pathologischen Anatomie, Band VII, Seite 11 ff., mit, dass er in

destillirtem Wasser noch 60 Tage nach der Einsaat lebensfähige Typhusbacillen beobachtet habe.

Im Jahre 1890 veröffentlichte Holtz in der Zeitschrift für Hygiene, Band VIII, Heft 1, einen Aufsatz, in welchem er mittheilt, dass er mit Hülfe der von ihm angegebenen verbesserten Methode zum Nachweis der Typhusbacillen im Wasser dieselben selbst in mit andern Organismen stark verunreinigtem Wasser sicher fünf bis sechs Tage nachweisen konnte.

Eine neue Arbeit von Karlinski erschien im Archiv für Hygiene, Band X, Heft 4, Seite 464 ff., unter dem Titel: „Ein Beitrag zur Kenntniss des Typhusbacillus im Trinkwasser." Karlinski berichtet in diesem Aufsatz über fünf Versuche, welche er in der Weise anstellte, dass er in seinem derzeitigen Wohnorte, Stolac in der Herzegowina, eine seit alter Zeit bestehende, aber schon seit lange nicht mehr benutzte Cisterne mit bestimmten Mengen zunächst Regen-, später Brunnenwassers anfüllte und dieses Wasser nicht mit künstlich gezüchteten Typhusbacillen, sondern mit den Stühlen von Typhuskranken inficirte. Der Autor glaubte durch diese Anordnung seiner Versuche den natürlichen Verhältnissen noch näher zu kommen, als bei seinen früheren Versuchen in München. Die Temperatur des Wassers betrug bei allen Versuchen 11 bis 12° C. Bei den drei ersten Versuchen, bei denen jedelmal nur eine einmalige Verunreinigung des Wassers mit Typhusstuhl stattfand, liessen sich eine Stunde, 24 und 48 Stunden nach der Infection Typhusbacillen mit Sicherheit nachweisen, zeigten jedoch eine stetige Abnahme; vom dritten Tage ab waren sie verschwunden. Gleichzeitig zeigten die übrigen Bacterien in den drei ersten Tagen eine rapide Vermehrung und kam ihre Zahl erst am dreizehnten Tage der vor der Verunreinigung beobachteten wieder gleich. Beim vierten Versuch fand zehn Tage hindurch täglich eine erneute Verunreinigung des Wassers mit Typhusstuhl statt. Ebenso

lange hielt sich der Gehalt an Wasserbacterien auf einer kolossalen Höhe, während Typhusbacillen in den stets eine Stunde nach der Verunreinigung entnommenen Proben nur bis zum achten Tage nachweisbar blieben.

Beim fünften Versuch endlich wurden viermal in Zwischenräumen von je vier Tagen Typhusdejectionen dem Wasser zugesetzt. Die Wasserbacterien zeigten bis zur letzten Verunreinigung am zwölften Tage eine stete Zunahme; Typhusbacillen dagegen waren schon 24 Stunden nach der letzten Stuhlzugabe nicht mehr nachzuweisen. Diese Resultate betrachtet Karlinski als einen unumstösslichen Beweis für die Unhaltbarkeit der Trinkwassertheorie.

Bei meinen Versuchen, welche ich im Juli und August 1891 im hygienischen Institut zu Rostock mit dem Wasser der Oberwarnow und dem von vier in verschiedenen Theilen der Stadt gelegenen Brunnen anstellte, wurde ich gleich Kraus und Karlinski in erster Linie von dem Bestreben geleitet, die natürlichen Verhältnisse möglichst genau nachzuahmen.

Es wurden daher von den verschiedenen unten näher beschriebenen Wässern Proben in Erlenmeyer'schen Kölbchen entnommen, dieselben mit Wattebäuschchen verschlossen und in das Laboratorium des hygienischen Instituts übergeführt. Dort wurde zunächst jedesmal eine chemisch-bacteriologische Untersuchung des betreffenden Wassers vorgenommen, und zwar habe ich bei allen Versuchen bestimmt:

a. den Chlorgehalt auf 1 l Wasser;
b. den Sauerstoffverbrauch zur Oxydation der organischen Substanz auf 1 l;
c. die An- oder Abwesenheit von Nitraten
d. die An- oder Abwesenheit von Nitriten } qualitativ;
e. den Gesammtsbacteriengehalt dadurch, dass ich einen Tropfen (= 1/20 Cbcm) Wasser mittelst sterilisirter Pipette in ein Reagensglas mit ver-

flüssigter gewöhnlicher Nährgelatine fügte, mit dieser mischte und zu einer Rollcultur ausrollte.

Dann impfte ich die betreffende Wasserprobe, indem ich mit steriler Nadel ein wenig aus einer Typhusreincultur, deren Virulenz vorher festgestellt war, entnahm und dem Wasser schüttelnd zufügte. Die so inficirten, vorher nicht sterilisirten Wasserproben wurden, mit Wattebäuschchen verschlossen, in einem Schranke im Laboratorium aufbewahrt. Die Temperatur im Laboratorium schwankte während der Zeit meiner Versuche zwischen 18 und 21° C., entsprach also bezüglich des Flusswassers vollständig der um die genannte Jahreszeit herrschenden natürlichen Temperatur. Bezüglich des Brunnenwassers freilich war sie durchschnittlich etwas zu hoch, dieselbe beträgt nach Lau in Uffelmann's hygienischer Topographie von Rostock 9—12° C. Ich habe deshalb mit einer Probe eines der Brunnenwässer noch einen Parallelversuch in der Weise gemacht, dass ich dieselbe im Eisschrank dauernd bei einer Temperatur von 9,5 bis 10,5° C. hielt. In Bezug auf Ab- und Zufluss von Wasser, wie er in natürlichen Brunnen beständig vor sich geht, vermochte ich freilich die natürlichen Verhältnisse nicht nachzuahmen, denn es war mir nicht möglich, wie Karlinski es in seiner zweiten und dritten Arbeit beschreibt, einen ganzen Brunnen oder auch eine Cisterne zu inficiren und für meine Versuche zu verwenden. Beim Flusswasser kommt noch die Bewegung in Betracht; da dieselbe aber nach Versuchen von B. Schmidt im hygienischen Institut zu Rostock ohne nennenswerthen Einfluss auf die Lebensdauer der pathogenen Organismen im Wasser ist, so glaubte ich dieselbe bei meinen Versuchen ohne besonderen Nachtheil ausser Acht lassen zu dürfen. Es schien mir eine besonders wichtige und dankbare Aufgabe, neben dem Brunnen auch das Flusswasser in den Kreis meiner Untersuchungen zu ziehen, weil es durch Beobachtung verschiedener Autoren wahrscheinlich geworden ist, dass die Verbreitung der Typhuskeime nicht selten

durch Flusswasser stattfindet, sei es nun, dass es, zum Trinken und Hausgebrauch verwandt, gelegentlich oder aber beim Baden durch Verschlucken direct in den Darmcanal der Menschen gelangt.

Zum Nachweis der Typhusbacillen habe ich mich durchweg der neuen von Uffelmann angegebenen und von ihm in Nr. 35 des Jahrgangs 1891 der Berliner klinischen Wochenschrift beschriebenen Methode, welche ich als bekannt voraussetze, bedient. Es wurde stets nur solche Gelatine benutzt, von der zuvor festgestellt war, dass auf ihr Typhusbacillen wuchsen. Unmittelbar nach der Impfung des Wassers und dann jeden zweiten oder dritten Tag gab ich, nachdem jedesmal vorher das betreffende Kölbchen gehörig umgeschüttelt war, einen Tropfen resp. eine Oese des Wassers auf ein Reagensglas mit verflüssigter saurer Methylviolettgelatine und fertigte Rollculturen daraus an. Nach 48 Stunden waren die Typhuscolonien von den anderen deutlich durch ihre Granulirung und Blaufärbung unterscheidbar. Zur sicheren Controle wurden Deckglaspräparate angefertigt, Kartoffelculturen angelegt und vor allem im hängenden Tropfen die aus den Colonien gefischten Bacterien auf ihre Beweglichkeit untersucht. Dies geschah mit besonderer Sorgfalt von da an, wo die wie Typhuscolonien aussehenden spärlicher wurden.

Versuch I.

Am 16. Juli 1891 wurde der Oberwarnow aus dem Schnellengraben ca. ½ l Wasser entnommen und direct in das Laboratorium des hygienischen Instituts übergeführt. Die chemisch-bacteriologische Untersuchung ergab folgendes Resultat:

a. 0,038 g Chlor pro 1 l;
b. 0,007 g Sauerstoffverbrauch pro 1 l;
c. keine Nitrate;
d. keine Nitrite;
e. 180 die Gelatine verflüssigende und 260 nicht verflüssigende Keime pro 1 ccm.

100 ccm des Wassers füllte ich in ein Erlenmeyer'sches Kölbchen und impfte es mit Typhusbacillen. Eine sofort mit einem Tropfen angefertigte Rollcultur zeigte schon nach 24 Stunden deutlich erkennbare im Auskeimen begriffene Typhuscolonien, nach 48 Stunden zählte ich 5—600. Eine am 18. Juli (3. Tag) mit einem Tropfen Wasser angelegte Rollcultur zeigte nach 48 Stunden zahllose charakteristische Typhuscolonien, ein Vergleich mit der Cultur vom ersten Tage ergab eine zweifellose bedeutende Vermehrung derselben.

Diese Beobachtung, welche sich bei den folgenden Versuchen wiederholte, erscheint mir besonders interessant und wichtig, da die Vermehrung der Typhusbacillen im nicht sterilisirten Wasser bisher nur wenige Male beobachtet ist und von Kraus und Karlinski ausdrücklich in Abrede genommen wird.

Für die Anfertigung der folgenden Culturen verwandte ich stets nur eine Oese des Wassers. Durch mehrfache Versuche habe ich mich davon überzeugt, dass 16—20 Oesen voll Wasser $^1/_{20}$ ccm ausmachten.

In der Cultur vom 20. Juli (5. Tag) zeigten sich nach 48 Stunden sehr zahlreiche Typhuscolonien; wenn wegen der Verschiedenheit der verwendeten Wassermenge ein Vergleich dieser Cultur mit der vom 18. Juli auch nur schwer möglich war, so hatte ich doch nach mehrfacher Betrachtung beider den Eindruck, dass abermals eine relative Vermehrung der Typhuscolonien, also auch eine Vermehrung der Bacillen im Wasser stattgefunden hatte.

In der Cultur vom 23. Juli (8. Tag) waren nach 48 Stunden zahlreiche Typhuscolonien zu beobachten; ein Vergleich mit der vom 20. Juli ergab jedoch eine entschiedene Verminderung.

Die Cultur vom 25. Juli (10. Tag) liess eine weitere Abnahme der Typhuscolonien erkennen.

Dasselbe gilt von den am 27. und 28. Juli (12. und 13. Tag) angelegten Culturen.

Die Cultur vom 30. Juli (15. Tag) enthielt nur sehr wenige blaugefärbte granulirte Colonien, welche ich als Typhuscolonien anzusprechen wagte. Ich impfte deswegen am 1. August von zweien derselben auf Kartoffeln, nach weiteren 48 Stunden beobachtete ich in beiden Fällen auf den Kartoffeln einen schwach erkennbaren, kaum feuchten, etwas glänzenden Rasen, ganz so, wie er für die echten Typhusbacillen charakteristisch ist. Ausserdem erwiesen sich die Bacillen von der Form und Beweglichkeit, wie sie den Typhusbacillen eigen ist.

Von jetzt an fertigte ich die Culturen wieder mit je einem Tropfen Wasser.

Die Cultur vom 1. August (17. Tag) enthielt nach 48 Stunden völlig charakteristische Typhuscolonien nicht mehr, dagegen verschiedene zweifelhafte. Mehrere Deckglaspräparate und Abimpfungen auf Kartoffeln ergaben ein negatives Resultat.

Es wurden noch Culturen am 4., 6. und 8. August (20., 22. und 24. Tag) angelegt. In allen dreien erschienen nach 48 Stunden überhaupt nur wenige Colonien, darunter niemals charakteristische Typhuscolonien; alle irgendwie verdächtigen wurden durch Anfertigung von Deckglaspräparaten, durch Beobachtung aus den Colonien gefischter Bacterien, sowie durch Anlegung von Kartoffelculturen weiter geprüft. Das Resultat war stets ein negatives.

Andere als Typhuscolonien wurden in diesen aus Oberwarnowwasser angefertigten Culturen stets nur in geringer Menge beobachtet, namentlich niemals die nach einem gewissen Zeitraum sonst bei allen anderen Versuchen auftretenden unten näher beschriebenen grob granulirten Colonien.

Versuch II.

Am 17. Juli wurden aus der an der Ecke der Friedrich Franz- und der Prinzenstrasse gelegenen Pumpe ca. $^1/_2$ l Wasser entnommen. Die sofort im Laboratorium vorgenommene chemische Untersuchung ergab folgendes:

a. 0,065 g Chlor pro 1 l Wasser;
b. 0,0038 g Sauerstoffverbrauch pro 1 l Wasser;
c. Spuren von Nitraten;
d. keine Nitrite;
e. 40 die Gelatine verflüssigende und 100 nicht verflüssigende Bacterien pro 1 ccm.

Am selben Tage füllte ich 50 ccm des Wassers in ein Erlenmeyer'sches Kölbchen, inficirte es mit Typhusbacillen und legte nach gehörigem Umschütteln sofort mit einem Tropfen des Wassers eine Rollcultur aus saurer Methylviolettgelatine an. In derselben waren schon nach 24 Stunden zahlreiche im Auskeimen begriffene Typhuscolonien zu erkennen, deren Deutlichkeit in den nächsten 48 Stunden noch bedeutend zunahm.

In der Cultur vom 20. Juli (4. Tag), zu welcher ebenfalls ein Tropfen Wasser verwendet wurde, liess sich gegen den ersten Tag eine entschiedene Vermehrung der Typhuscolonien erkennen. Gleichzeitig zeigten sich in derselben auffallend viele Colonien, welche auch diese saure Methylviolettgelatine verflüssigten, während dieselben bei allen anderen Wässern fast gar nicht beobachtet wurden. In Folge dessen waren die von diesem Wasser angelegten Culturen öfter schon nach 48, sicher aber nach 72 Stunden zur Beobachtung nicht mehr brauchbar.

Zu den folgenden Culturen wurde jedesmal nur 1 Oese des Wassers verwendet.

In der Cultur vom 23. Juli (7. Tag) beobachtete ich am 25. Juli eine Reihe charakteristischer Typhuscolonien, doch war ein Theil der Gelatine schon verflüssigt, am nächsten Tage war eine Beobachtung nicht mehr möglich.

Die Cultur vom 25. Juli (9. Tag) zeigte nach 48 Stunden mehrere deutliche Typhuscolonien, gleichzeitig bereits wieder bedeutende Verflüssigung.

In der Cultur vom 28. Juli (12. Tag) beobachtete ich nach zwei und drei Tagen mehrere Colonien, welche ganz das Aussehen der Typhuscolonien hatten, und überzeugte

mich an beiden Tagen durch Anfertigung der oben bezeichneten Controlpräparate von deren Echtheit.

Dasselbe gilt von der am 30. Juli (14. Tag) angelegten Cultur.

In der Cultur vom 1. August (16. Tag) zeigten sich schon nach 24 Stunden massenhafte Colonien, weit mehr als in allen früheren. Dieselben hatten durchweg ein gleiches Aussehen und auf den ersten Blick eine grosse Aehnlichkeit mit den echten Typhuscolonien. Sie waren ebenfalls granulirt und bläuten sich. Doch zeigte die weitere Beobachtung deutliche Unterschiede. Die genannten Colonien waren gröber granulirt und wuchsen weit schneller, als die der echten Typhusbacillen. Wiederholte Beobachtungen der aus diesen Colonien gefischten Bacterien lehrten, dass dieselben sehr kleine bewegliche Stäbchen enthalten, welche kleiner sind, als die echten Typhusbacillen. Diese Stäbchen wachsen auf Kartoffeln unter Bildung eines dicken graugelblichen Rasens. Echte Typhusbacillen konnte ich in dieser Cultur trotz eifrigen Suchens nicht nachweisen.

In der Cultur vom 4. August (19. Tag), zu der diesmal ein Tropfen Wasser verwendet wurde, zeigten die genannten grob granulirten Colonien trotzdem eine bedeutende Abnahme, daneben beobachtete ich mehrere charakteristische Typhuscolonien, von deren Echtheit ich mich durch die oben erwähnten Controlpräparate überzeugte.

Es wurden noch Culturen angelegt am 6., 8. und 10. August (21., 23. und 25. Tag). In allen dreien wurden neben den weiter verminderten grob granulirten Colonien mehrere beobachtet, welche wie Typhuscolonien aussahen, doch vermochte ich trotz eifrigen Suchens den positiven Nachweis vom Vorhandensein echter Typhusbacillen nicht mehr zu führen.

Versuch III.

Das verwendete Wasser wurde am 17. Juli aus der am Blücherplatz gelegenen Pumpe entnommen. Die

chemisch-bacteriologische Untersuchung ergab folgendes Resultat:

a. 0,076 g Chlor pro 1 l Wasser;
b. 0,0042 g Sauerstoffverbrauch pro 1 l Wasser;
c. Spuren von Nitraten;
d. Spuren von Nitriten;
e. 80 die Gelatine verflüssigende und 620 nicht verflüssigende Bacterien pro 1 ccm.

Die sofort nach der Impfung mit einem Tropfen des inficirten Wassers angelegte Cultur zeigte nach 48 Stunden zahlreiche charakteristische Typhuscolonien.

Die Cultur vom 20. Juli (4. Tag) zeigte eine Reihe charakteristischer Typhuscolonien, jedoch war beim Vergleich mit der vom ersten Tage entschieden keine Vermehrung, eher eine Verminderung zu constatiren. Es wurde deswegen auch zu den nächsten Culturen stets ein Tropfen Wasser verwendet.

In der Cultur vom 23. Juli (7. Tag) war der Befund nach 48 Stunden noch zweifelhaft; wegen der an diesen Tagen niedrigeren Zimmertemperatur gewannen die Typhuscolonien erst am dritten Tage ihr charakteristisches Aussehen, wurden dann aber in ziemlicher Anzahl beobachtet.

In der Cultur vom 25. Juli (9. Tag) war gegen die vorige eine entschiedene Abnahme der Typhuscolonien zu constatiren.

Die Cultur vom 28. Juli (12. Tag) zeigte nur sehr vereinzelte Typhuscolonien, deren Echtheit durch Controlpräparate sicher gestellt wurde.

Dasselbe gilt von der am 30. Juli (14. Tag) angelegten Cultur.

In der Cultur vom 1. August (16. Tag) wurden ganz ebenso, wie bei Versuch II die blauen grob granulirten Colonien in unzähligen Mengen beobachtet.

In der Cultur vom 4. August (19. Tag) waren neben den bedeutend verminderten grob granulirten Colonien

mehrere andere zu beobachten, jedoch keine charakteristischen Typhuscolonien, auch ergaben alle angefertigten Controlpräparate ein negatives Resultat.

In den noch am 6., 8. und 10. August (21., 23. und 25. Tag) angelegten Culturen waren trotz eifrigen Suchens keine Typhusbacillen mehr aufzufinden.

Versuch IV.

Das verwendete Wasser wurde der beim Katharinenstift gelegenen Pumpe am 17. Juli entnommen. Die sofort angestellte chemisch-bacteriologische Untersuchung ergab folgendes Resultat:

a. 0,354 g Chlor auf 1 l Wasser;
b. 0,0076 g Sauerstoffverbrauch auf 1 l Wasser;
c. Spuren von Nitraten;
d. Spuren von Nitriten;
e. 120 die Gelatine verflüssigende und 260 nicht verflüssigende Bacterien auf 1 ccm.

Die sofort nach der Impfung mit einem Tropfen Wasser angelegte Cultur zeigte nach 48 Stunden zahlreiche Typhuscolonien.

Dieselben traten in der Cultur vom 20. Juli (9. Tag) in bedeutend vermehrter Zahl auf.

Zu den folgenden Culturen wurde nur eine Oese Wasser verwendet.

In der Cultur vom 22. Juli (6. Tag) wurden trotzdem noch sehr zahlreiche Typhuscolonien beobachtet; ein Vergleich mit der vorigen stellte eine relative Vermehrung ausser Zweifel.

In der Cultur vom 24. Juli (8. Tag) war gegen die vorige eine entschiedene Abnahme der Typhuscolonien zu constatiren, ebenso in der Cultur vom 26. Juli (10. Tag) eine weitere entschiedene Abnahme.

Dagegen blieb bei der Cultur vom 29. Juli (13. Tag), obgleich zu derselben, wie zu den folgenden wieder ein Tropfen Wasser verwendet war, der Befund zweifelhaft.

Die Cultur vom 31. Juli (15. Tag) enthielt eine sehr charakteristische Colonie. Es wurde davon ein Deckglaspräparat gefertigt, die Beweglichkeit geprüft und auf Kartoffeln geimpft. Die Controlversuche bestätigten das Vorhandensein echter Typhusbacillen.

Die Cultur vom 3. August (17. Tag) enthielt einige grob granulirte blaue, reichlich so viele gelbe und einige die wie Typhuscolonien aussahen. Angestellte Controlversuche ergaben ein negatives Resultat.

Ebenso gelang es trotz eifrigen Suchens nicht mehr, in den noch am 5., 8. und 10. August (19., 22. und 24. Tag) angelegten Culturen das Vorhandensein echter Typhusbacillen nachzuweisen.

Versuch V.

Das verwendete Wasser wurde am 17. Juli der in der Wollenweberstrasse gelegenen Pumpe entnommen. Die chemisch-bacteriologische Untersuchung ergab folgendes Resultat:

a. 0,184 g Chlor auf 1 l Wasser;
b. 0,0046 g Sauerstoffverbrauch auf 1 l Wasser;
c. Spuren von Nitraten;
d. Spuren von Nitriten;
e. 600 die Gelatine verflüssigende und 4000 nicht verflüssigende Bacterien auf 1 ccm.

Die sofort nach der Impfung mit einem Tropfen Wasser angelegte Cultur enthielt nach 48 Stunden eine grosse Anzahl typischer Typhuscolonien.

In der Cultur vom 20. Juli (4. Tag) zeigten die Typhuscolonien schon eine entschiedene Verminderung, daneben wurden zahlreiche andere Colonien beobachtet, weit mehr, als bei den übrigen Versuchen. Es wurde deswegen auch zu den nächsten Culturen stets ein Tropfen Wasser verwendet.

In der Cultur vom 22. Juli (6. Tag) waren nach zwei und drei Tagen neben zahlreichen anderen nur

wenige Typhuscolonien zu beobachten, deren Echtheit durch die oben bezeichneten Controlpräparate geprüft wurde.

Dasselbe gilt von den am 24., 27. und 29. Juli (8., 11. und 13. Tag) angelegten Culturen. Stets wurde der sichere Nachweis von dem Vorhandensein einzelner echter Typhuscolonien geführt.

In der Cultur vom 31. Juli (15. Tag) erschienen auch bei diesem Wasser die oben näher beschriebenen grob granulirten Colonien in grossen Mengen und kamen daneben andere Colonien überall nicht zur Beobachtung.

Die genannten Colonien waren in der Cultur vom 3. August (18. Tag) ebenso plötzlich wieder verschwunden. Dieselbe enthielt überhaupt nur wenige Colonien, darunter einige, welche wie Typhuscolonien aussahen. Die Echtheit derselben wurde durch die mehrfach erwähnte Controle sicher gestellt.

Dagegen gelang es nicht mehr, in den noch am 5., 7. und 10. August (20., 22. und 25. Tag) angelegten Culturen Typhuscolonien aufzufinden.

Versuch VI.

Am 27. Juli entnahm ich der am Blücherplatz gelegenen Pumpe eine neue Wasserprobe von ca. 100 ccm, impfte sie nach der Ueberführung ins Laboratorium sofort mit Typhusbacillen und bewahrte sie dauernd im Eisschrank bei einer Temperatur von 9,5 bis 10,5 ° C auf. Jeden zweiten oder dritten Tag legte ich wie bei den anderen Versuchen Culturen an, welche selbstverständlich wie die anderen bei Zimmertemperatur aufbewahrt wurden.

Die sofort nach der Impfung mit einem Tropfen Wasser angefertigte Cultur enthielt nach 48 Stunden zahlreiche charakteristische Typhuscolonien.

Dieselben zeigten in der Cultur vom 29. Juli (3. Tag), wenn auch keine sichere Vermehrung, so doch jedenfalls noch keine Verminderung.

Ebenso waren in der Cultur vom 30. Juli (4. Tag) noch sehr zahlreiche charakteristische Typhuscolonien, fast gar keine anderen zu erkennen. Mehrfache Vergleiche mit den beiden vorigen ergaben, dass von einer Abnahme noch nicht die Rede sein konnte.

In der Cultur vom 1. August (6. Tag) war eine Abnahme der Typhuscolonien zu verzeichnen, welche in der Cultur vom 3. August (8. Tag) weitere Fortschritte gemacht hatte. In der Cultur vom 5. August (10. Tag) erschienen auch hier die mehrfach erwähnten grob granulirten Colonien in mässiger Anzahl, jedenfalls bei weitem nicht so zahlreich, wie beim 2., 3. und 5. Versuch. Neben den grob granulirten waren einige charakteristische Typhuscolonien vorhanden, deren Echtheit durch die mehrfach erwähnte Controle geprüft wurde.

In der Cultur vom 6. August (11. Tag) zeigten die grob granulirten Colonien bereits wieder eine Abnahme, daneben wurden sicher einzelne Typhuscolonien beobachtet.

In der Cultur vom 8. August (13. Tag) waren die grob granulirten Colonien völlig verschwunden, dagegen gelang es sicher, Typhusbacillen nachzuweisen.

Ebenso gelang es noch, in den am 10., 12. und 15. August angelegten Culturen das Vorhandensein echter Typhuscolonien nachzuweisen, später wurden dieselben nicht mehr beobachtet.

Welche Schlüsse darf man aus den vorstehenden Versuchen ziehen? Ich habe gefunden, dass sich die Typhusbacillen im natürlichen, nicht sterilisirten Fluss- und Brunnenwasser bei einer Temperatur von 18—21 ° C und in letzterem auch bei einer solchen von 10 ° C wenigstens 14—20 Tage lebensfähig erhalten können, ja dass sie nach ihrem Hineingelangen in dasselbe mitunter eine bemerkenswerthe Vermehrung zeigen. Besonders wichtig erscheint mir die Beobachtung, dass gerade in

dem Wasser, welches bei 10° C gehalten wurde, also den natürlichen Verhältnissen am nächsten kam, erst nach fünf Tagen eine deutlich erkennbare Abnahme der eingesäten Typhusbacillen zu bemerken war, und dass gerade in diesem die Typhusbacillen am längsten, nämlich bis zum 20. Tage beobachtet wurden. Eine besondere Abhängigkeit der Lebensdauer von der chemischen Zusammensetzung konnte ich nicht beobachten. Auffallend erscheint mir, dass in allen Brunnenwässern zu einer bestimmten Zeit (10. bis 15. Tag) dieselbe oben näher beschriebene Bacterienart in Unmengen auftrat, jedoch nur für ganz kurze Zeit, und dass gleichzeitig mit dieser Erscheinung die Typhusbacillen verschwunden oder doch nur noch in ganz vereinzelten Exemplaren vorhanden waren.

Auf Grund dieser Resultate muss ich die Behauptungen von Kraus und Karlinski, dass die Trinkwassertheorie unhaltbar sei, weil die Typhusbacillen im Wasser zu schnell zu Grunde gingen, entschieden zurückweisen. Freilich widerlegen sich diese Autoren bis zu einem gewissen Grade selbst, denn wenn Kraus findet, dass die Typhusbacillen sich sechs Tage im Brunnenwasser lebensfähig erhalten können, so muss er doch auch zugeben, dass in einer Zeit von sechs Tagen sehr viele Menschen, welche das Wasser des betreffenden Brunnens trinken, sich mit Typhus inficiren können. Dasselbe gilt von Karlinski. Selbst wenn, wie er glaubt, die längste Lebensdauer der Typhuskeime im Brunnenwasser nur 72 Stunden beträgt, so werden doch bei der fortwährend stattfindenden Benutzung des betreffenden inficirten Brunnens auch während dieser 72 Stunden eine Reihe Menschen von dem Wasser trinken und somit sich inficiren können. Und weiter liegt dann doch die Möglichkeit nahe, dass von den so Erkrankten in Folge mangelhafter Beseitigung der Dejectionen auf's Neue infectiöses Material in den Brunnen gelangt, worauf dann der Kreislauf von Neuem beginnt. Wenn aber, wie aus

meinen Versuchen hervorgeht, die Typhuskeime sich 14, ja 20 Tage im Brunnenwasser lebensfähig erhalten können, so wird man doch die Möglichkeit einer Infection durch das Trinkwasser noch viel mehr einräumen müssen; für jeden unparteiischen Beobachter aber muss durch diese Beobachtungen die Wahrscheinlichkeit, dass, wenn auch nicht alle, so doch ein grosser Theil aller Typhusfälle durch den Genuss inficirten Trinkwassers herbeigeführt wird, bedeutend erhöht werden.

Endlich möge es mir gestattet sein, hier noch die Mittheilung einiger Versuche anzuschliessen, welche ich über die Lebensdauer der Typhusbacillen im Selterswasser angestellt habe.

Am 22. Juli öffnete ich eine mittelst Patentkorkes geschlossene Flasche Selterswasser, entnahm möglichst schnell mit sterilisirter Pipette einige Tropfen für die Anfertigung einer Rollcultur aus gewöhnlicher Nährgelatine, fügte eine Aufschwemmung von Typhusreincultur in 2 ccm destillirten Wassers hinzu und schloss die Flasche, aus der nur sehr wenig Kohlensäure entwichen war, sofort wieder. Dieselbe wurde im Bibliothekzimmer des hygienischen Instituts bei einer durchschnittlichen Temperatur von 18° C aufbewahrt. Die Rollcultur ergab das Resultat, dass das Wasser auf einem ccm 36000 Keime enthielt. Nach acht Tagen, am 31. Juli, öffnete ich die Flasche wieder und impfte sowohl auf gewöhnliche Nährgelatine, wie auf saure Methylviolettgelatine. In der aus letzterer angefertigten Cultur entwickelten sich weder Typhus- noch andere Colonien, der Gesammtkleingehalt betrug 1200 auf 1 ccm Wasser.

Am 3. August impfte ich eine aus derselben Fabrik stammende Flasche Selterswasser, deren Keimgehalt an diesem Tage 20000 auf 1 ccm Wasser betrug, auf die oben beschriebene Weise mit Typhusbacillen, wieder unter möglichst geringem Kohlensäureverlust.

Diese Flasche öffnete ich schon nach drei Tagen, am

6. August, entnahm mit steriler Pipette einige Tropfen und schloss die Flasche dann sofort wieder. Die aus gewöhnlicher Nährgelatine angefertigte Cultur ergab einen Keimgehalt von 12000 auf 1 ccm Wasser, in der aus saurer Methylviolettgelatine angelegten Cultur entwickelten sich massenhaft charakteristische Typhuscolonien. Am 8. August, also nach weiteren zwei Tagen, entnahm ich der Flasche abermals einige Tropfen; der Gesammtkeimgehalt betrug jetzt 6000 auf 1 ccm. Typhuscolonien wurden nicht mehr beobachtet.

Auf Grund dieser Beobachtungen glaube ich die Behauptung Hochstetters, dass wie alle Bacterien, so auch die pathogenen Mikroorganismen im Selterswasser einer beschleunigten Vernichtung unterliegen, speciell für die Typhusbacillen bestätigen zu können.

Zum Schlusse erfülle ich die angenehme Pflicht, dem Herrn Professor Uffelmann für die Anregung zu dieser Arbeit und für die Unterstützung bei derselben meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.